

リアルタイムPCR用cDNA合成試薬 完全プレミックスタイプ ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix



NEW

ゲノムDNA除去試薬をプラスしたリアルタイムPCR用cDNA合成試薬

ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover

■期間：2012年1月16日～2012年3月30日（ご注文分）

リアルタイムPCR用のcDNA合成に最適化された、プレミックスタイプの逆転写試薬です。

ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix(Code No. FSQ-201)は、高効率逆転写酵素「ReverTra Ace®」を用いて開発された、リアルタイムPCR用の逆転写反応キットです。逆転写反応に必要な成分を全て含んだ5×濃度の完全プレミックス試薬であり、鋳型RNAと水を添加するだけで、迅速に反応を開始することができます。また、リアルタイムPCRのターゲットとなる短鎖cDNAの合成に最適化された反応組成の採用により、リアルタイムPCRに適したcDNA鋳型を短時間で効率良く調製することが可能です。

ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover(Code No. FSQ-301)は、強力なDNA分解活性を有するgDNA Removerを付属しており、逆転写反応前に鋳型RNAを処理することによって、ゲノムDNAフリーのcDNAを簡単に調製することができます。検出するターゲットに偽遺伝子が存在する場合や、イントロンをまたぐ位置にプライマーを設定できない場合など、鋳型RNAにコンタミするゲノムDNAの残存が問題となるリアルタイムPCR実験に最適です。

特長1 完全プレミックス試薬

- ・ -20℃においても凍結しない完全プレミックスタイプの試薬です。鋳型RNAと水を加えるだけの操作で、簡単に再現性良くcDNAを合成することができます。

特長2 逆転写反応(-)コントロールの調製が容易

- ・ 同じくプレミックスタイプの no-RT Controlが付属していますので、逆転写反応(-)のコントロールも、容易に調製することができます。



特長3 幅広いダイナミックレンジを実現

- ・ Oligo dTと Random Primerの最適な混合比を持つプライマーミックスの採用により、RNAの全領域を均一に、高い効率で逆転写反応を行うことができます。よって、広いダイナミックレンジでの解析が可能となります。

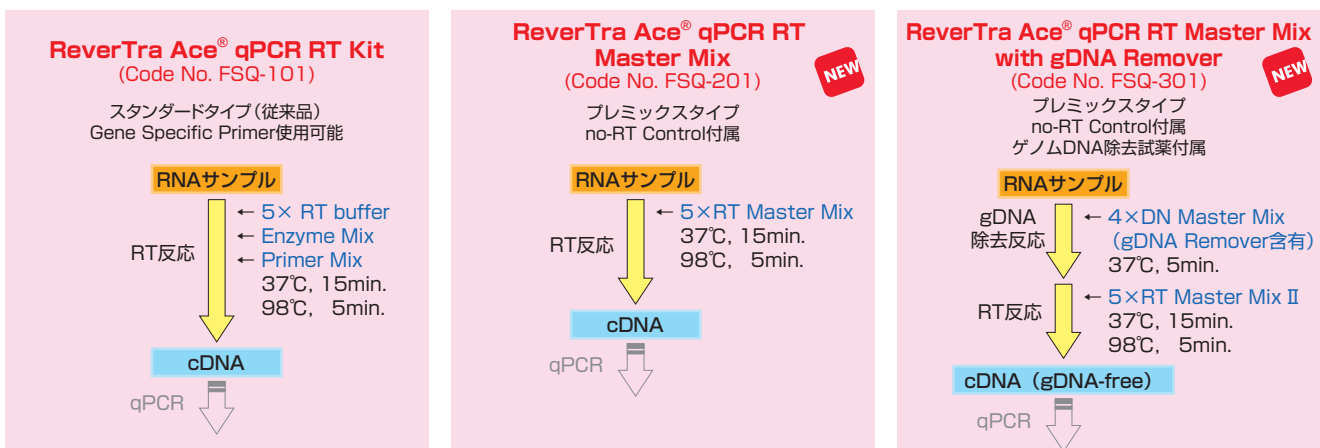
特長4 リアルタイムPCR試薬との高い適合性

- ・ リアルタイムPCRの反応系への影響を最小限に抑える組成を採用しており、最大で20%液量の逆転写反応液をPCRに添加した場合でも、高い直線性を示します。発現量が少ないmRNAの高感度検出にも最適です。

特長5 簡便、迅速にゲノムDNAを除去 ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover

- ・ ゲノムDNA除去試薬と逆転写反応試薬を順次添加するだけの約20分の操作で、ゲノムDNAフリーのcDNAの調製が可能です。

【ReverTra Ace® リアルタイムPCR用cDNA合成試薬シリーズフロー】

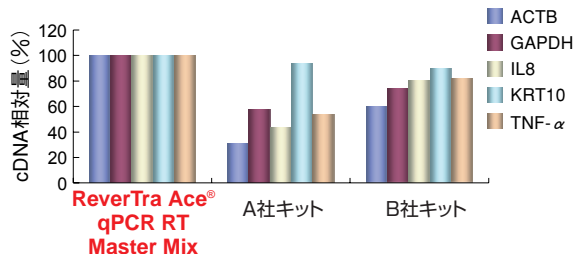


実施例1 他社プレミックスcDNA合成試薬との逆転写反応効率(cDNA合成量)の比較

HeLa total RNA 100ngを鋳型に、各社キットの推奨条件にて逆転写反応を行い、続いてリアルタイムPCRにて5種類のターゲットの定量を行いました。その結果、本キットを用いることで最も高い収量が得られることが示されました。

●cDNA合成

試薬: **ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (Code No.FSQ-201)** 及び他社の同タイプ(プレミックスタイプ)の製品
 鋳型: HeLa total RNA 100ng / 10μl反応系
 条件: 各社キットの推奨条件に従って実施



●リアルタイムPCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No.QPS-201)
 鋳型: 上記cDNA 2μl/20μl反応系(持込量10%)
 Target: 代表的な遺伝子 5種
 測定: Applied Biosystems 7900HT

実施例2 鋳型RNA量に対する合成効率の検討(検量線の直線性の確認)

鋳型RNA量に対する逆転写合成効率を評価するため、HeLa total RNA 2pg~2μg(8水準)を鋳型に逆転写反応を行ない、続いてリアルタイムPCRにて5種類のターゲットの定量を行ないました。その結果、5種類のターゲットの検量線が交差することなく、かつ高い直線性を示しました。このことから、広いRNA濃度範囲にわたって、同等な効率にて逆転写ができていていることが示されました。

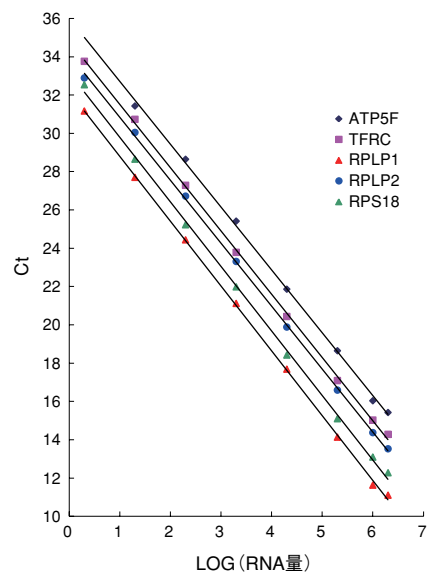
●cDNA合成

試薬: **ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (Code No.FSQ-201)**
 鋳型: HeLa total RNA 2pg-2μg / 20μl反応系

●リアルタイムPCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No.QPS-201)
 鋳型: 上記cDNA 2μl/20μl反応系(持込量10%)
 Target: 代表的なHouse Keeping Gene 5種
 測定: Applied Biosystems 7900HT

Template RNA量 (pg)	Log (RNA量)	qPCR での各TargetのCt値				
		ATP5F	TFRC	RPLP1	RPLP2	RPS18
2	0.301		33.76	31.16	32.89	32.54
20	1.301	31.43	30.73	27.70	30.05	28.65
200	2.301	28.64	27.29	24.44	26.72	25.22
2,000	3.301	25.41	23.79	21.12	23.31	21.98
20,000	4.301	21.86	20.43	17.69	19.88	18.42
200,000	5.301	18.65	17.09	14.14	16.59	15.10
1,000,000	6.000	16.03	15.03	11.63	14.37	13.09
2,000,000	6.301	15.42	14.28	11.11	13.53	12.28
/20μl	Slope	-3.280	-3.303	-3.384	-3.284	-3.368
	R2	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999
	Eff.	101.8%	100.8%	97.5%	101.6%	98.1%



実施例3 gDNA RemoverによるゲノムDNA除去効果の確認

gDNA RemoverによるゲノムDNAの除去効果を確認するため、下記の条件にて逆転写反応を行い、続いてβ-ActinをターゲットにリアルタイムPCRを行いました。その結果、gDNA Remover処理(+)、逆転写(-)〈下記③〉の条件では増幅が見られないことから、確実にゲノムDNAが除去されていることが示されました。

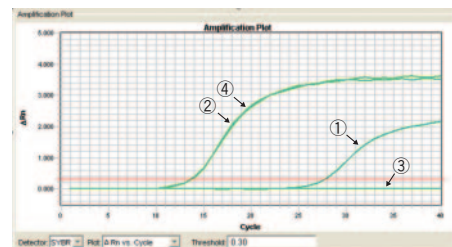
●cDNA合成

試薬: **ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (Code No.FSQ-301)**
 鋳型: 自家調製したHeLa total RNA 0.5μg / 10μl反応系
 条件: gDNA Remover添加(+)、あるいは無添加(-)の4×DN Master Mixを用いてgDNA除去反応を行った後、それぞれをさらに、5×RT Master Mix IIあるいは5×RT Master Mix II no-RT Controlを用いて逆転写反応を実施

	4×DN Master Mix	5×RT Master Mix
①	gDNA Remover(-)	RTase(-)
②	gDNA Remover(-)	RTase(+)
③	gDNA Remover(+)	RTase(-)
④	gDNA Remover(+)	RTase(+)

●リアルタイムPCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No.QPS-201)
 鋳型: 上記cDNA 2μl/20μl反応系(持込量10%)
 Target: ACTB (188bp)
 測定: Applied Biosystems 7900HT



実施例4 同タイプ他社品とのゲノムDNA除去能の比較

HeLa total RNAに大過剰のヒトゲノムDNAを添加したモデル実験にて、同タイプ他社キットとのゲノムDNA除去能の比較を行いました。その結果、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Removerが最もゲノムDNA除去能に優れていることが示されました。

ReverTra Ace®
qPCR RT Master Mix
with gDNA Remover

●cDNA合成

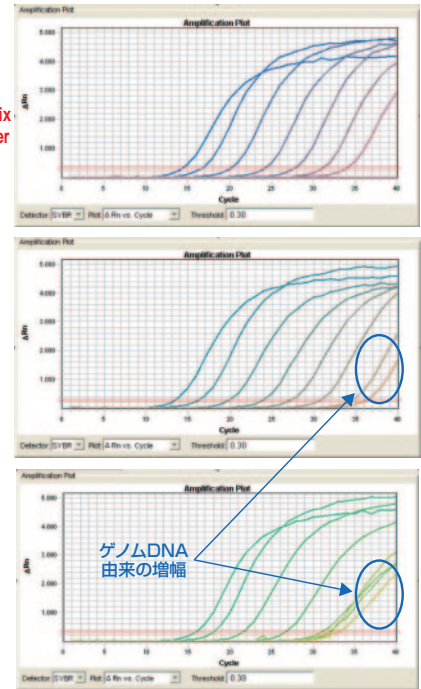
試薬：ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (Code No.FSQ-301) および同タイプ他社キット2種
 鑄型：HeLa total RNA (0, 1pg, 10pg, 100pg, 1ng, 10ng, 100ng, 1μg) + ヒトgDNA 100ng/20μl 反応系
 条件：各社キットの推奨条件に従って実施

●リアルタイムPCR

試薬：THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No.QPS-201)
 鑄型：上記cDNA 2μl/20μl 反応系 (持込量10%)
 Target：ACTB (188bp)
 測定：Applied Biosystems 7900HT

A社キット

C社キット



品名および内容	包装	保存温度	Code No.	通常価格	キャンペーン価格
ReverTra Ace® qPCR RT Kit ・5×RT Buffer ・Enzyme Mix ・Primer Mix ・Nuclease-free Water	200回用 (10μl反応)	-20℃	FSQ-101	¥38,000	¥22,800
ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix ・5×RT Master Mix ・5×RT Master Mix no-RT Control ・Nuclease-free Water	200回用 (10μl反応)	-20℃	FSQ-201	¥38,000	¥19,000 NEW
ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover ・gDNA Remover ・4×DN Master Mix ・5×RT Master Mix II ・5×RT Master Mix II no-RT Control ・Nuclease-free Water	200回用 (10μl反応)	-20℃	FSQ-301	¥40,000	¥20,000 NEW

※ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (Code No. FSQ-201) の5×RT Master Mix及び5×RT Master Mix no-RT Controlは、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (Code No. FSQ-301) の5×RT Master Mix II 及び5×RT Master Mix II no-RT Controlとは各々組成が異なります。それぞれのキット付属の試薬をご使用ください。

関連商品

THUNDERBIRD® qPCR Mix (p.4) とのセット品もございます。

45%OFF

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	通常価格	キャンペーン価格
THUNDERBIRD® Probe qPCR/RT Set II THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (200回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (200回用) とのセット	1セット	-20℃	QPS101/ FSQ201	¥63,000	¥34,650
THUNDERBIRD® SYBR® qPCR/RT Set II THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (200回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (200回用) とのセット	1セット	-20℃	QPS201/ FSQ201	¥63,000	¥34,650
THUNDERBIRD® Probe qPCR/RT Set III THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (200回用) とReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (200回用) とのセット	1セット	-20℃	QPS101/ FSQ301	¥65,000	¥35,750
THUNDERBIRD® SYBR® qPCR/RT Set III THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (200回用) とReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (200回用) とのセット	1セット	-20℃	QPS201/ FSQ301	¥65,000	¥35,750

※THUNDERBIRD®の反応回数は、50μl 反応時のものです。
 ※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。